

OCRATOXINA A EM GRÃOS DE CAFÉ BENEFICIADOS E SUA RELAÇÃO COM O PADRÃO DA BEBIDA¹

BATISTA, L.R.²; CHALFOUN, S.M.³ e PRADO, G.⁴

¹Fonte Financiadora: Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento/Café; ²Aluno de Pós-Graduação do Departamento de Ciência dos Alimentos - UFLA, <luisrb@ufla.br>; ³EPAMIG/EcoCentro - Lavras-MG; Fundação Ezequiel Dias - Núcleo de Micologia e Micotoxinas, Belo Horizonte-MG.

RESUMO: O presente estudo teve como objetivos avaliar a distribuição da ocratoxina A em grãos de café provenientes de diferentes municípios produtores da região Sul do Estado de Minas Gerais e comparar a presença da toxina com a qualidade da bebida previamente classificada de acordo com o resultado obtido a partir da atividade da polifenoloxidase. Das 40 amostras analisadas, 12,5% estavam contaminadas com níveis que variaram de 0,47 a 4,82 ng/g, com média de 2,45 ng/g. Levando em consideração que não ocorre perda da toxina durante a torração dos grãos de café, os níveis de contaminação representam apenas 5,87% do limite permitido pela FAO. Verificou-se ainda relação entre a ocorrência da ocratoxina A e diferentes padrões qualitativos da bebida, indicando que a política de melhoria do padrão qualitativo do café reduz também o risco de contaminação por micotoxinas.

Palavras-chave: ocratoxina A, café, qualidade.

OCHRATOXIN A IN GREEN COFFEE BEANS AND ITS RELATIONSHIP WITH THE STANDARD DRINK QUALITY

ABSTRACT: The present study was conducted to evaluate the distribution of ochratoxin A in coffee beans coming from different coffee growing localities in South Region of Minas Gerais State and compare the presence of the toxin with the quality of the beverage previously classified according to the result obtained from polyphenoloxidase activity. Between the 40 samples analyzed, 12,5% were contaminated with levels ranging from 0,47 to 4,82 ng/g, with a mean level of 2,45 ng/g. Taking into consideration that no loss occurs of the toxin during the toasting of coffee beans, the levels of contamination represent only 5,87 % of the limit allowed by the FAO. Relationship of ochratoxin A and different qualitative standards of the beverage was still found, denoting that the politic of improvement on the qualitative standard of coffee also decrease the risk of contamination by mycotoxins

Key words: ochratoxin A, coffee, quality.

INTRODUÇÃO

Os estudos sobre ocratoxina A em grãos de café tiveram início em 1974, com Levi, Trenk e Mohr. Neste primeiro estudo, a metodologia usada para detectar ocratoxina em cevada, utilizando Cromatografia de Camada Delgada, foi modificada para a detecção da toxina em grãos de café. Desde então, várias metodologias têm sido usadas para avaliar a presença de ocratoxina A em grãos e produtos do café. Atualmente, a metodologia mais precisa é baseada na extração com solventes orgânicos, uma purificação da toxina com coluna de imunoafinidade e a detecção e quantificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE. A maior vantagem do uso de colunas de imunoafinidade para a purificação nas análises de micotoxinas é a habilidade de extrair essencialmente a toxina produzida em diferentes matrizes, obtendo altas recuperações e produzindo um cromatograma livre de interferentes (Sharman et al., 1992). A ocratoxina A presente em amostras de grãos de café é o resultado do crescimento dos fungos produtores da toxina diretamente nos frutos e/ou grãos. Os principais fungos produtores de ocratoxina A e que são freqüentemente isolados de grãos de café são do gênero *Aspergillus*, com as espécies pertencentes às seções *Circundati* e *Nigri* e o gênero *Penicillium*, representado unicamente pela espécie *Penicillium verrucosum*. Os dados sobre ocratoxina A em grãos e produtos do café, ainda que poucos, mostram-se favoráveis, com poucas amostras contaminadas e teores baixos de ocratoxina A. Um dos fatores que podem contribuir para estes baixos níveis de contaminação são os grãos de café, que parecem ser um pobre substrato para a produção de ocratoxina A (Mantle e Chow, 2000). Visando contribuir com o levantamento de resultados sobre a presença de ocratoxina A em grãos de café, o presente estudo teve como objetivo comparar a presença de ocratoxina A com a qualidade da bebida, em amostras previamente classificadas de acordo com os resultados obtidos a partir de análises químicas (atividade da polifenoloxidase).

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

As amostras de 11 municípios localizados na região Sul do Estado de Minas Gerais foram coletadas através da EPAMIG/CTSM-Lavras-MG. Foram analisadas 40 amostras de grãos de café beneficiado, classificado em diferentes padrões de bebida.

As análises de ocratoxina A foram conduzidas em duas etapas, em dois laboratórios diferentes; a extração e a purificação da toxina foram realizadas no Laboratório da EPAMIG/CTSM de Lavras-MG e a detecção e quantificação e confirmação da toxina por CLAE foi feita no laboratório de Micotoxinas da Fundação Ezequiel Dias -Belo Horizonte-MG.

Para a determinação de ocratoxina A em grãos de café verdes, foi utilizada a metodologia do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (Brasil..., 1999), até a etapa de purificação da toxina; as etapas de detecção e quantificação foram de acordo com Pittet et al. (1996). Após a injeção de cada solução-padrão nas concentrações 1,68; 3,36; 6,72; e 13,46µg/kg para traçar uma curva-padrão, foram injetados 100 µL das amostras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Porcentagem de recuperação da metodologia

Com a modificação realizada na metodologia do Ministério da Agricultura (Brasil...,1999), a partir da detecção e quantificação em CLAE, foi possível obter recuperação acima de 70%, como mostra a Tabela 1. Um outro fator importante que auxiliou para obter esse nível de recuperação foi a utilização de colunas de imunoafinidade na etapa de purificação. As recuperações obtidas com a presente metodologia variaram de 79,6 a 90,50%, com média de 82,64%. Os níveis de recuperação ficaram bem próximos dos obtidos por Terada et al. (1986) e Trucksess et al. (1999), ambos analisando ocratoxina A em grãos de café, com 81,5 e 88,33%, respectivamente, utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Apesar da ótima recuperação obtida neste estudo, as amostras 15 e 37 apresentaram coeficiente de variação superior a 30%, sendo 32,80 e 35,40%, respectivamente. Esse valor de coeficiente de variação acima de 30% tem sido encontrado em outros estudos (Studer-Rohr et al., 1995; Blanc et al., 1998). Isso ocorre pelo fato de serem poucos os grãos infectados por fungos potencialmente produtores em um saco de café. Com essa falta de homogeneidade, há necessidade de alto número de análises da mesma amostra em seqüência para quantificar o grau de contaminação com ocratoxina A. Em amostras altamente contaminadas, a contaminação com ocratoxina A é mais homogênea (Studer-Rohr et al., 1995).

3.2 Distribuição de ocratoxina A em amostras naturalmente contaminadas

Das 40 amostras analisadas, 12,5% (5) apresentaram contaminação com ocratoxina A em concentrações que variaram de 0,64 a 4,14 ng/g, com média dos valores positivos de 2,45 ng/g. Esses resultados refletem os obtidos por Trucksess et al. (1999), que detectaram níveis de 0,1 a 4,6 ng/g de

ocratoxina A em grãos de café em 9 das 19 amostras. Nakajima et al. (1997) detectaram a presença de ocratoxina A em 14 das 47 amostras analisadas, com média de 2,6 ng/g. Micco et al. (1989), ao analisar 14 amostras brasileiras, observaram que 10 apresentaram contaminação que variou de 0,2 a 5,5, com média de 2,03 ng/g. Dados colhidos pela UNICAMP, de 142 amostras de grãos de café verde analisadas no Brasil, mostram uma contaminação média de 2,4 ng/g. A média de contaminação de ocratoxina A encontrada neste estudo está de acordo com os resultados obtidos em pesquisas no exterior e no Brasil. Entretanto, a porcentagem de amostras contaminadas foi inferior à obtida por Nakajima et al. (1997), Micco et al. (1989) e Trucksess et al. (1999).

Em nenhuma das amostras analisadas foi detectado valor de contaminação de ocratoxina acima de 5,0 ng/g (valor proposto pelas legislações europeias para grãos de café e cereais).

3.3 Distribuição de ocratoxina A em grãos de diferentes qualidades

A Tabela 1 mostra os resultados da comparação da qualidade dos grãos com os níveis de contaminação de ocratoxina A. A contaminação com ocratoxina A foi mais frequente em amostras classificadas como duro e riado do que nas amostras mole, apenas mole e estritamente mole. As amostras classificadas como duro e riado apresentam maior número de grãos com defeitos e, conseqüentemente, maior possibilidade de contaminação com fungos toxigênicos. Assim, a presença de ocratoxina A nessas amostras já é esperada, devido à sua qualidade inferior, principalmente se houver condições favoráveis. Inesperadamente, uma amostra classificada como estritamente mole apresentou nível de contaminação de 4,14 ng/g. Esse resultado não é esperado, uma vez que os mesmos fungos que produzem as micotoxinas são os responsáveis por alterações indesejáveis na qualidade organoléptica do café.

Tabela 1 - Relação entre a qualidade dos grãos e a presença de ocratoxina A

Qualidade dos Grãos	N. de amostras	N. de amostras contaminadas	Média de contaminação
Estritamente mole	07	01	4,14 ng/g
Mole	02	00	-----
Apenas Mole	03	00	-----
			0,64ng/g
Duro	20	03	1,44 ng/g
			3,55 ng/g
Riado	08	01	2,47 ng/g

3.2 Riscos de intoxicação ao consumidor com relação às amostras analisadas

De acordo com o JECFA, um nível seguro aceitável de ocratoxina A é de 100 ng/peso corpóreo/semana, cerca de 14,3 ng/peso corpóreo/dia (Soares, 1999). Para uma pessoa de 60 kg isso

significa aproximadamente 857 ng/dia. Se levarmos em consideração que não ocorre perda de ocratoxina A durante a torração e o preparo da bebida do café, para um consumidor de 60 kg que consome quatro xícaras de café por dia (24 g de café torrado), que é o consumo *per capita* nos países europeus (Stegen et al., 1997), e considerando o valor médio encontrado neste estudo, 2,45 ng/g, a ingestão de ocratoxina A corresponderia a 58,8 ng/dia. Dessa maneira, as amostras de grãos de café após a torração iriam contribuir com cerca de 6,85% do limite permitido pelo JECFA.

No Brasil, o consumo *per capita* de café é de três a quatro xícaras, cerca de 25 g de café torrado e moído. Considerando um adulto brasileiro de 70 kg, este adulto teria consumo diário de 61,25 ng/dia, o que corresponderia a 6,12% do limite permitido pelo JECFA.

Estes resultados refletem os obtidos na revisão feita por Soares (1999), segundo a qual a ingestão calculada com base na contaminação média de café verde consumida no Brasil, levando em consideração que não haja perdas durante a torração, corresponderia a 6% do nível estabelecido pela FAO.

O JECFA, diante do problema de ocratoxina A em café, questiona se a ingestão de ocratoxina A em café é significativa para o consumidor a ponto de merecer limites específicos (Soares, 1999).

Com relação aos resultados obtidos neste estudo, os grãos de café não são a maior fonte de ocratoxina A na dieta dos consumidores, contribuindo com aproximadamente 6% do limite permitido pelos órgãos fiscalizadores (FAO e JECFA).

CONCLUSÕES

Com relação aos resultados obtidos a partir das análises de ocratoxina A em grãos de café verde, conclui-se:

- Os níveis de ocratoxina A encontrados em 12,5% das amostras analisadas variaram de 0,64 a 4,14 ng/g, em média.
- A presença de ocratoxina A foi mais freqüente em amostras de qualidades dura e riado do que em amostras estritamente mole, mole e apenas mole.
- Os níveis de ocratoxina A encontrados neste estudo representam aproximadamente 6,12% do consumo diário permitido pelo JECFA, mostrando que os grãos de café não são os responsáveis pela maior fonte na dieta de ocratoxina A.
- As amostras de grãos de café apresentaram níveis seguros de contaminação de ocratoxina A.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLANC, M.; PITTET, A.; MUÑOZ-BOX, R.; VIANI, R. Behavior of ochratoxin A during green coffee roasting and soluble coffee manufacture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, n.2, p. 673-675, Feb. 1998.
- BRASIL. Decretos e Leis. **Metodologia Analítica para Determinação de Ocratoxina A por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**, DIÁRIO OFICIAL DA REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL, Brasília, n. 138, 46-47, jul. 1999.
- LEVI, C.P.; TRENK, H.L.; MOHR, H. K. Study of the occurrence of ochratoxin A in green coffee beans. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v. 57, n.4, p.866-870, 1974.
- MANTLE, P.G; CHOW, A.M. Ochratoxin formation in *Aspergillus ochraceus* with particular reference to spoilage of coffee. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.56, p.105-109, 2000.
- MICCO, C.; GROSSI, M.; MIRAGLIA, M.; BRERA, C. A study the contamination by ochratoxin A of green and roasted coffee beans. **Food Additives and Contaminants**, Hants, v.6, n.3, p.333-339, 1989.
- NAKAJIMA, M.; TSUBOUCHI, H.; MIYABE, M.; UENO, Y. Survey of Aflatoxin B 1 and Ochratoxin A in commercial green coffee beans by highperformance liquid chromatography linked with immunoaffinity Chromatography. **Food and Agricultural Immunology**, Oxon, n.9, p.77-83, 1997.
- PITTET, A.; TORNARE, D.; HUGGETT, A.; VIANI, R. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in pure and adulterated soluble coffee using an immunoaffinity column cleanup procedure. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Washington, v.44, n.11, p.3564-3569, 1996.
- SHARMAN, M.; MacDONALD, S.; GILBERT, J. Automated Liquid Chromatographic Determination of Ochratoxina A in Cereals and Animal Products Using Immunoaffinity Column Clean-up. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.603, p.285-289, 1992.
- SOARES, L.S. Ocratoxinas e aflatoxinas em café brasileiro. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGIA NA AGROINDÚSTRIA CAFEEIRA, 3., 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR/IRD, 1999. p. 447-452.
- STEGEN, G.V.D; JÖRISSEN, U.; PITTET, A.; SACCON, M.; STEINER, W. VINCENZI, M.; WINKLER, M.; ZAPP, J.; SCHLATTER, CHR. Screening of European coffee final products for occurrence of ochratoxin A (OTA). **Food Additives and Contaminants**, Hants, v.14, n.3, p.211-216, 1997.
- STUDER-ROHOR, I.; DIETRICH, D.R.; SCHLATTER, J.; SCHLATTER, C. The occurrence of ochratoxin A in coffee. **Food Chemistry and Toxicology**, Oxford, v.33, n.5, p.341-355, 1995.

TERADA, H.; TSUBOUCHI, H.; YAMAMOTO, K.; HISADA, K.; SAKABE, Y. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in coffee beans e coffee products. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v.69, n.6, p.960-964, 1986.

TRUCKSESS, M. W., GILER, J., YOUNG, K., WHITE, K. D., e PAGE, S. W. Determination and survey of ochratoxin A in wheat, barley and coffee-1997. SCOTT, P.B. Note on Analysis of Aflatoxins in Green Coffee. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v. 82, n.1, p.85-89, 1999.